

XTerra™色谱柱的维护和使用指南

感谢您选择沃特世公司的XTerra™色谱柱，其填料采用沃特世公司专利的有机-无机杂化颗粒技术，同时具有无机硅胶和有机聚合物填料的优点。同硅胶基体反相填料相比，杂化颗粒填料分离效果好，并极大地提高了填料的化学稳定性，可以在更宽的pH范围使用。XTerra采用超纯试剂合成得到，在满足cGMP要求并获得ISO9001:2000认证的工厂进行生产。XTerra™的每批填料的各项质量指标都控制得非常严格，以保证色谱柱卓越的重现性。每一根XTerra™色谱柱都是单独检测，每根色谱柱都有柱性能测试报告和所用填料的分析证书。

我们建议您配套使用Sentry保护柱以避免色谱柱污染并延长色谱柱使用寿命。

内容：

第一节 启用

- a. 色谱柱安装
- b. 色谱柱平衡
- c. 测试色谱柱的柱效

第二节 色谱柱的使用

- a. 保护柱
- b. 样品前处理
- c. pH使用范围
- d. 溶剂
- e. 压力
- f. 温度
- g. 等度分离方法的转换计算

第三节 色谱柱的清洗、再生和保存

- a. 清洗和再生
- b. 保存

第四节 将色谱柱连接到HPLC系统

- a. 色谱柱的连接
- b. 测量系统的谱带扩展体积以及系统偏差
- c. 测量梯度延迟体积(或滞后体积)

第五节 其它信息

- a. 使用窄径柱(3.0mm内径)
- b. 系统谱带扩展对2.1mm内径色谱柱的影响
- c. 有关优化LC/MS/MS系统的建议
- d. 沃特世小颗粒填料(2.5μm)色谱柱 – 快速液相色谱

第一节 启用

每一根XTerra™色谱柱都有柱性能测试报告Performance Test Chromatogram 和所用填料的分析报告Certificate of Analysis，填料的分析报告储存在色谱柱包装盒内的技术信息CD上，是所用填料的批次分析报告，其中包括填料的批号、填料颗粒键合前和键合后的分析数据、测试结果和所用的测试条件；性能测试报告是针对每根色谱柱的测试报告，包括以下信息：填料批号、色谱柱序列号、USP塔板数、拖尾因子、容量因子以及所用的测试条件。用户应该储存这些信息以便在将来做参考。

a. 色谱柱的安装

提示：以下的流速适用于4.6 mm内径，粒径为5 μ m的色谱柱，请根据色谱柱内径、长度、填料粒径以及压力适当地对流速进行调节。请参考第三节了解如何根据色谱柱的规格调整流速；参考第五节了解有关HPLC系统连接的更多信息。

1. 冲洗含有任何缓冲盐的泵系统，将色谱柱入口端连接到进样器的出口端，色谱柱上的箭头标明了流动相的流向(先不要接检测器)。
2. 在0.1ml/min流速条件下用100%甲醇或乙腈冲洗色谱柱，然后在5分钟内将流速升至0.5ml/min。
3. 当溶液均匀地从柱子出口流出时，停掉流速，将色谱柱出口端接到检测器上(这样操作可以避免气泡进入检测系统，并且可快速达到基线平衡)。
4. 按照步骤2的方法逐渐提高流速。
5. 一旦压力达到稳定值并且基线平衡好后，则进入下一步操作。

说明：如果流动相中含有低浓度的流动相改性剂如离子对试剂，要达到完全平衡可能需要100倍甚至200倍柱体积的流动相；此外，对于含有甲酸或甲

b. 色谱柱平衡

XTerra™色谱柱是用100%乙腈保存的，在使用其它的流动相系统前一定要确保流动相和色谱柱内溶剂的“相容性”。至少用10倍柱体积的流动相平衡色谱柱(见表1中不同规格色谱柱的柱体积数值)。

表1：不同规格色谱柱的柱体积(mL) (乘以10作为冲洗色谱柱所用的流动相体积)

柱长(mm)	色谱柱内径(mm)								
	1.0	2.1	3.0	4.6	7.8	10	19	30	50
20	-	0.07	0.14	0.33	-	-	-	-	-
30	-	0.10	0.21	0.50	-	2.4	8.5	-	-
50	0.04	0.17	0.35	0.83	2.4	3.9	14	35	98
100	0.08	0.35	0.71	1.7	4.8	7.8	28	70	-
150	0.12	0.52	1.0	2.5	7.2	12	42	106	294
250	-	0.87	1.8	4.2	-	20	70	176	490

为了避免流动相中的缓冲盐在色谱柱或系统中析出，在换上流动相之前，需要用5倍柱体积的水与有机溶剂的混合溶液(将缓冲溶液用水替代，要求有机溶剂的含量比流动相中的含量略低或相等，如在使用60/40的甲醇/缓冲盐流动相之前先用5倍柱体积的60/40甲醇/水溶液冲洗色谱柱)。

c. 测试色谱柱的柱效

1. 在开始使用色谱柱分析样品前先测量色谱柱的柱效，沃特世建议选用合适的待测物测试柱效，如采用色谱柱性能测试报告中的样品和条件【加入柱效测试条件】。
2. 计算塔板数，用这个数据作为对照，定期监控色谱柱的柱效。
3. 随着色谱柱的使用，需要定期作同样的测试以便追踪色谱柱的性能变化，由于不同仪器的管路连接、操作环境、系统电路、所使用的溶剂和试剂的质量、色谱柱条件以及操作者的技术都有可能不同，因此在不同的HPLC系统上测试的结果可能会有一些差别。

第二节 色谱柱的使用

为确保XTerra™色谱柱具有最佳的性能，请遵守以下操作指导：

a. 保护柱

在进样器和分析柱之间使用填料化学和颗粒大小都适合的保护柱对于保护分析柱至关重要。请选择高性能的保护柱以便在保护分析柱的同时不会影响到分离效果。

保护柱需要定期更换，更换的周期主要取决于样品的干净程度。当系统压力上升至超过某个设定值或者突然出现色谱峰分叉的现象，往往是需要更换保护柱的信号。

b. 样品前处理

1. 样品中的杂质通常会污染色谱柱，建议采用合适的SPE技术(Oasis或Sep-pak)净化样品来避免这个问题，详情请参考www.waters.com/sampleprep。
2. 用流动相或比流动相洗脱强度弱的溶液(含有较少有机溶剂)溶解或稀释样品可以获得最好的峰形和检测灵敏度。
3. 果样品在流动相中不溶解或者溶解度很差时，要确保样品、样品溶液和流动相是互溶的，以避免样品在流动相中析出。
4. 用0.2 μm的滤膜过滤样品以充分去除颗粒杂质，如果样品溶解在含有机溶剂的改性剂(如乙腈、甲醇)的溶剂中，在选择滤膜时要注意膜的材质不会在该溶剂中溶解，也可以在8000 rpm转速的条件下离心20分钟后移取上清液进样。

c. pH使用范围

XTerra™色谱柱的建议pH使用范围比硅胶基体色谱柱的宽，XTerra MS色谱柱的pH使用范围是1-12，XTerra RP色谱柱的pH使用范围是2-11。值得指出的是：色谱柱的寿命取决于所用缓冲液的种类、浓度和温度。以下的表格2, 3, 4列出了建议使用的不同pH的缓冲溶液体系，可以作为开发LC方法的参考。请注意在高温条件下使用磷酸盐缓冲体系会对柱寿命有很大的影响，尽管XTerra色谱柱比硅胶基体色谱柱具有更长的寿命。

表2: XTerra™色谱柱建议使用的缓冲溶液体系 (pH 1-7)

缓冲盐/流动相改性剂	pKa	缓冲范围	挥发性 ?± pH单位	是否 MS兼容?	备注
TFA	0.3	-	是	是	离子对试剂，能够抑制MS信号，通常使用的浓度范围为0.02-0.1%
乙酸	4.76	-	是	是	同乙酸铵一起使用具有最大的缓冲能力，通常使用的浓度范围0.1-1.0%
甲酸	3.75	-	是	是	同甲酸铵一起使用具有最大的缓冲能力，通常使用的浓度范围0.1-1.0%
乙酸铵	4.76	3.76-5.76	是	是	通常使用1-10mM浓度，注意钾盐和钠盐是非挥发性的
甲酸铵	3.75	2.75-4.75	是	是	通常使用1-10mM浓度，注意钾盐和钠盐是非挥发性的
磷酸盐1	2.15	1.15-3.15	否	否	传统的低pH缓冲体系，UV透光度很好
磷酸盐2	7.2	6.2-8.2	否	否	当pH值超过7时，降低操作温度/缓冲盐浓度以及使用保护柱可以将色谱柱寿命最长化

表3: XTerra™色谱柱建议使用的缓冲溶液体系 (pH 7-12)

缓冲盐/流动相改性剂	pKa	缓冲范围	挥发性 ?± pH单位	是否 MS兼容?	备注
4-甲基吗啉	-8.4	7.4-9.4	是	是	通常使用浓度是不超过10mM
氨水	9.2		是	是	保持浓度不超过10mM，温度在30摄氏度以下
碳酸氢铵	10.3(HCO ₃ ²⁻) 9.2(NH ₄ ⁺) 6.3(H ₂ CO ₃)	6.8-11.3	是	是	通常使用浓度为5-10mM(使用MS需保证离子源温度超过150摄氏度)；用氨水或乙酸调节pH值；在pH10的情况下具有很好的缓冲能力 说明：使用碳酸氢铵而非碳酸铵
乙酸铵	9.2	8.2-10.2	是	是	通常使用浓度为1-10mM
甲酸铵	9.2	8.2-10.2	是	是	通常使用浓度为1-10mM
硼酸盐	9.2	8.2-10.2	否	否	
1-甲基哌啶 (乙酸或甲酸盐)	10.2	9.3-11.3	是	是	通常使用浓度为1-10mM
三乙胺 (乙酸盐)	10.7	9.7-11.7	是	是	通常使用浓度为0.1-1.0%，当使用乙酸滴定时形成挥发性的缓冲盐(不可用盐酸或磷酸)；在pH 7-9 时分析DNA被用作离子对试剂
吡咯烷	11.3	10.3-12.3	是	是	温和的高pH缓冲液体系，对色谱柱损伤很小
磷酸盐3	12.3	11.3-13.3	否	否	

表4：XTerra™色谱柱建议使用的缓冲溶液体系 (pH 9-12)

缓冲盐/流动相改性剂	pKa	缓冲范围	挥发性 ± pH单位	是否 MS兼容?	备注
CAPSO (3-环己胺基-2-羟基丙磺酸)	9.7	8.7-10.7	否	否	两性离子缓冲液, 同乙腈互溶, 通常使用浓度为1-10mM, 气味很小
Glycine甘氨酸	2.4, 9.8	8.8-10.8	否	否	两性离子缓冲液, 比使用硼酸盐对柱子的损伤更小些
CAPS	10.4	9.5-11.5	否	否	两性离子缓冲液, 同乙腈互溶, 通常使用浓度为1-10mM, 气味很小

d. 溶剂

为了使色谱柱的性能达到最好，建议使用高品质的色谱溶剂。所有水相流动相在使用前都必须经过0.2µm滤膜过滤，建议使用Gelman Acrodisc过滤器。含有悬浮颗粒的溶剂通常会堵塞色谱柱入口滤片，这将导致柱压升高，分离度变差。

溶剂使用前需要充分脱气，这可以避免在泵和检测器内出现气泡，同时建议使用在线脱气装置，由于在运行低压梯度时水相和有机溶剂混合会产生气泡，因此充分脱气尤为重要。

e. 压力

所有XTerra™色谱柱能够耐受6000 psi (400 bar) 的压力，为了获得更长的使用寿命，我们还是建议色谱柱尽可能在低于4000~5000 psi 压力下使用。

f. 温度

XTerra™色谱柱的建议使用温度是20-60 °C，高温可以提高分离选择性、降低流动相粘度并同时提高传质速率。然而，超过室温使用色谱柱对柱寿命有都负面影响，其影响程度取决于流动相pH和所使用的缓冲体系。

g. 等度分离方法的转移

请根据如下公式计算不同规格的色谱柱相应的体积流速(保持流动相的线速度不变)、上样量和上样体积：

如果色谱柱内径和长度改变：

$$F_2 = F_1 \times (r_2/r_1)^2$$
$$\text{上样量}_2 = \text{上样量}_1 \times (r_2/r_1)^2 \times (L_2/L_1)$$
$$\text{上样体积}_2 = \text{上样体积}_1 \times (r_2/r_1)^2 \times (L_2/L_1)$$

其中，r代表色谱柱内径
F代表体积流速
L代表柱长
1代表初始色谱柱
2代表目标色谱柱

第三节 色谱柱清洗、再生和保存

a. 清洗和再生

色谱柱峰形发生改变、色谱峰分叉、出现肩峰、保留时间波动、分离度降低或者压力升高都表明色谱柱被污染了，用有机溶剂冲洗(请注意避免盐的析出)通常可以洗去这些污染物，如果有机溶剂清洗不能解决问题，可以按照以下清洗顺序处理：水—四氢呋喃—二氯甲烷—四氢呋喃—水。根据样品的性质以及你所了解的污染物的性质选择清洗方法，用20倍柱体积的HPLC级的溶剂清洗色谱柱，将流动相温度升至35-55 °C可以提高清洗的效率。

保护柱需要定期更换，更换的周期主要取决于样品的干净程度。当系统压力上升至超过某个设定值或者突然出现色谱峰分叉的现象，往往是需要更换保护柱的信号。

b. 色谱柱的保存

在室温条件下，如果四天之内不使用XTerra™色谱柱，请将柱子保存在100%乙腈中；如果色谱柱在高温或极端pH条件下使用，在工作结束后应立即将色谱柱保存在100%乙腈中以延长色谱柱的使用寿命。不要将色谱柱保存在高比例的水相流动相中（如有机溶剂含量低于20%，这样有可能会长菌）；不要将色谱柱保存在缓冲盐流动相条件下，如果流动相中含有缓冲盐，先用10倍柱体积的HPLC级水清洗色谱柱然后换上100%乙腈保存，将柱子两端的堵头拧紧以防止柱床干涸。

第四节 将色谱柱连接到HPLC系统

a. 色谱柱的连接

需要的工具：3/8 英寸扳手和 5/16 英寸扳手各一个

请避免在硬物上敲击色谱柱或将色谱柱从高处掉落，这样可能会造成柱床断裂，影响柱性能。

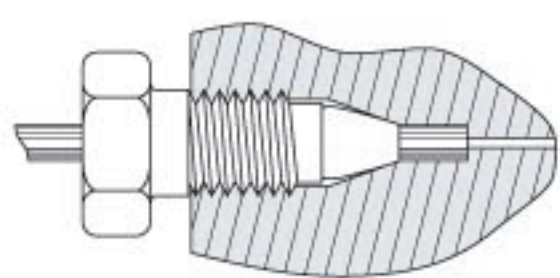
使用外径 1/16 英寸的不锈钢管连接色谱柱，只有不锈钢管与色谱柱接头的末端完全吻合，没有死体积或漏液的情况，才能获得最好的分离效果。当需要拧紧或拧松色谱柱连接时，请将 5/16 英寸的扳手置于不锈钢管的螺丝位置，将 3/8 英寸的扳手置于色谱柱端口的六面体位置。

沃特世公司的色谱柱具有Parker和Waters两种不同型式的接头，因此与之连接的管路的锥箍也有两种型式。如图1所示：Waters型式的接头要求露出锥箍的不锈钢管路长度为0.130英寸，而Parker型式的接头则要求露出锥箍的不锈钢管路长度为0.090英寸。

图1 Waters接头和Parker接头图示

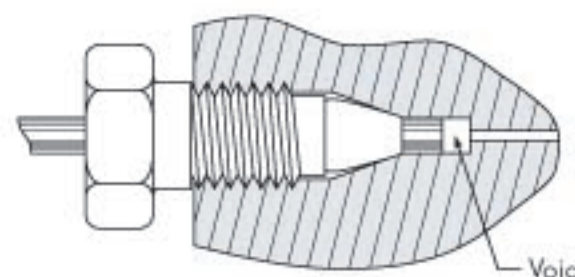


图2 管路与色谱柱正确连接的系统



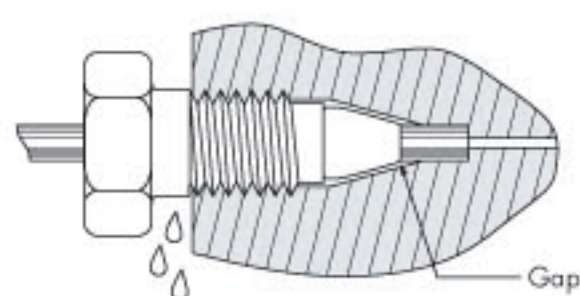
只有在管路与色谱柱正确连接的系统中，管路与色谱柱接口末端完全吻合，没有死体积，才能获得最好的分离效果。

图3 Parker接头与Waters型式色谱柱的连接



Parker接头与Waters型式色谱柱连接会产生死体积，而流路中死体积的存在必然降低色谱柱的柱效。解决这种问题的办法是：切掉原来的锥箍接头，用一个新的锥箍连接到管路上做成一个新的接头。请注意：在拧紧螺丝前，要保证露出锥箍的不锈钢管路长度和新的色谱柱接口匹配。

图4 Waters接头与Parker型式色谱柱的连接



Waters接头与Parker型式色谱柱连接时，在锥箍与色谱柱接口完全吻合之前，不锈钢管路就已经顶到了色谱柱接口的末端。这样，锥箍与色谱柱接口之间会留下缝隙而产生漏液。解决这类问题的方法有两种：

- 1) 用力拧紧不锈钢路上的螺丝时锥箍前移与柱接口完全吻合。请注意：用力不可过大以免损坏柱接口或将不锈钢管拧断。
- 2) 切掉原先的锥箍接头，将一个新的锥箍连接到管路上做一个新的接头。

用沃特世公司一件式或两件式PEEK接头(PSL613315一件式或PSL613322和PSL613316的两件式接头)代替传统的不锈钢压紧螺丝可以解决上述两类问题，因为PEEK接头允许自由调节露出锥箍之外的不锈钢管路长度，而且可以手动拧紧，简单方便。更方便的选择是使用SLIPFREE®连接器，它具有如下特点：

- 可将管路推入接口，保证无死体积连接
- 手紧后即可耐受10,000 psi压力
- 拆开连接后可以重新适应新的色谱柱接口，与所有商品化的接口兼容
- 不锈钢合金表面稳定性好，且没有颗粒物质产生
- 独特的设计将固定作用与密封作用分开

图4 单头和双头SLIPFREE 接头

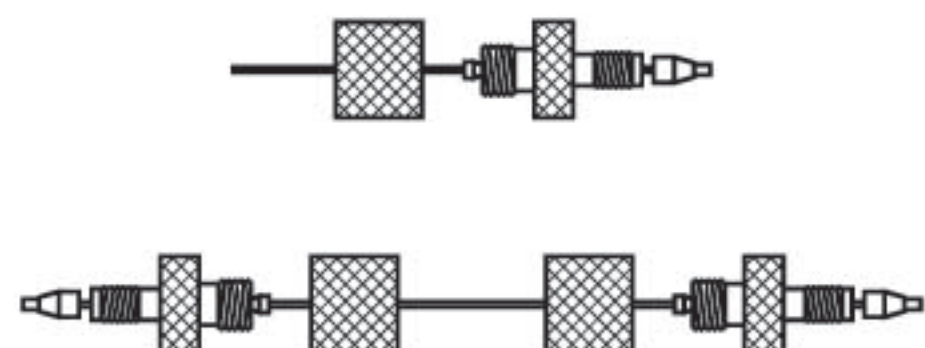


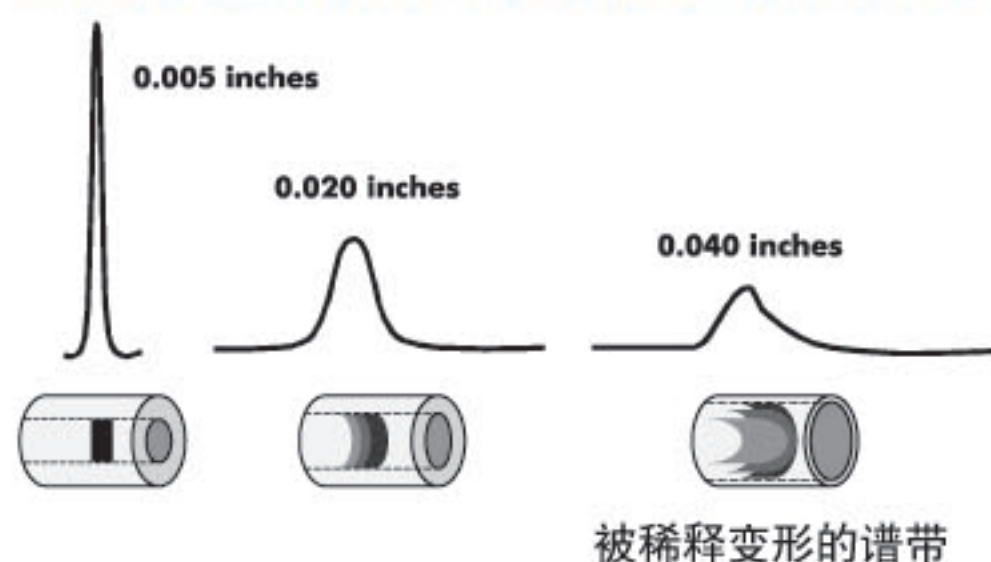
表5 SLIPFREE®接头的订货信息

SLIPFREE® 接头 类型及管路长	0.005"	0.010"	0.020"
单头 6 cm	PSL 618000	PSL 618006	PSL 618012
单头 10 cm	PSL 618002	PSL 618008	PSL 618014
单头 20 cm	PSL 618004	PSL 618010	PSL 618016
双头 6 cm	PSL 618001	PSL 618007	PSL 618013
双头 10 cm	PSL 618003	PSL 618009	PSL 618015
双头 20 cm	PSL 618005	PSL 618011	PSL 618017

b. 测量系统的谱带扩展体积以及系统偏差

图6说明了管路内径对系统谱带扩展和峰形的影响，可以看出，大内径的连接管路会产生更大的谱带扩展，灵敏度更低。

图 6: 管路内径对系统谱带扩展和峰形的影响



以下将介绍如何测量系统的谱带扩展体积和系统偏差。

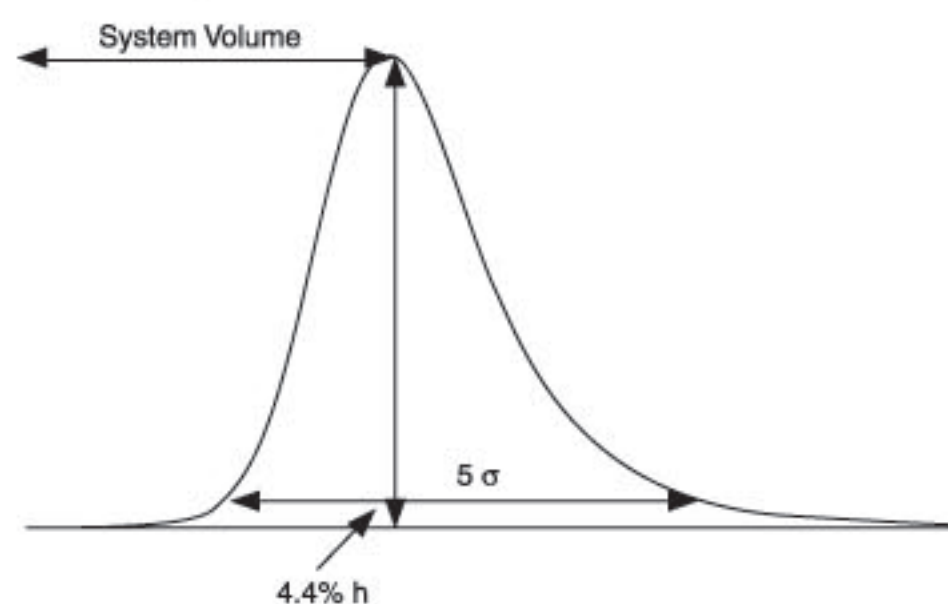
注意：测试需要在配置单波长紫外检测器的HPLC系统上进行(不要用二极管矩阵检测器)

- 取下色谱柱，换上一个零死体积的两通
- 将泵流速设为 1 mL/min
- 用流动相将测试混合物稀释，使检测器灵敏度达 0.5~1 AUFS(可使用包含尿嘧啶、对羟基苯甲酸乙酯和对羟基苯甲酸丙酯的混合物，沃特世订货号 WAT034544)
- 进样 2~5 μL
- 测量 4.4% 峰高处的峰宽 (5-sigma 方法):

$$5\text{-sigma 谱带扩展体积}(\mu\text{L}) = \text{峰宽}(\text{min}) \times \text{流速}(\text{mL/min}) \times (1000\mu\text{L}/1\text{ mL})$$

$$\text{系统偏差}(\mu\text{L}^2) = (5\text{-sigma 展宽}^2)/25$$

图7 使用5-sigma法确定系统谱带扩展体积



典型的HPLC系统谱带扩展体积应该在 70 μL 至 130 μL 之间(或偏差 $400\mu\text{L}^2 \pm 36\mu\text{L}^2$)，对于使用微径柱(如 2.1mm I.D. 的色谱柱)的系统，谱带扩展体积不得超过 20~40 μL (或偏差不得超过 $16\mu\text{L}^2 \sim 64\mu\text{L}^2$)。

c. 测量梯度延迟体积(或滞后体积)

为了成功地进行梯度方法的转移，需要在两台仪器上用相同的方法测试梯度滞后体积。如下列出了测量梯度滞后体积的方法：

- 取下色谱柱，换上一个零死体积的两通
- 准备流动相A(纯溶剂，如甲醇)和流动相B(流动相A中加入有UV吸收的样品，如含 0.1% (v/v) 丙酮的甲醇溶液)
- 用流动相A平衡系统直到基线平稳
- 设定检测器波长，以待测物的最大吸收为准(丙酮采用 265 nm)
- 流速设为 2 mL/min，编辑一个 10 分钟内 0~100% B 的线性梯度(具体的条件可以适当调整，但需要保证梯度体积不低于 20 mL)，然后保持 100% B，采集数据
- 首先测量 50% 吸光度处对应的梯度中点时间 $t_{1/2}$ (在起始和最终等度区间的基线之间的垂直距离的一半处，如图 8 所示)
- 将梯度中点时间 $t_{1/2}$ 减去梯度时间 t_g 的一半(本例为 5 分钟)即可得到梯度滞后时间 t_0
- 将梯度滞后时间 t_0 乘以流速 (2 mL/min) 即可得到滞后体积 V_0

提示：对快速梯度方法来讲，梯度滞后体积不得超过 1 mL，如果超过 1 mL，请参考系统优化建议部分的内容来减小系统体积。

第五节 其它信息

a. 使用窄径柱(3.0mm内径)

这部分内容将介绍如何减小柱外效应并提供如何在HPLC系统上使得窄径柱达到最好的性能。一般来讲3mm内径的窄柱不需要改变HPLC系统。然而, 如果使用2.1mm内径的色谱柱则需要优化HPLC系统以消除过多的系统谱带扩展体积, 过大的系统谱带扩展体积会造成峰展宽, 分离效果差, 灵敏度降低。

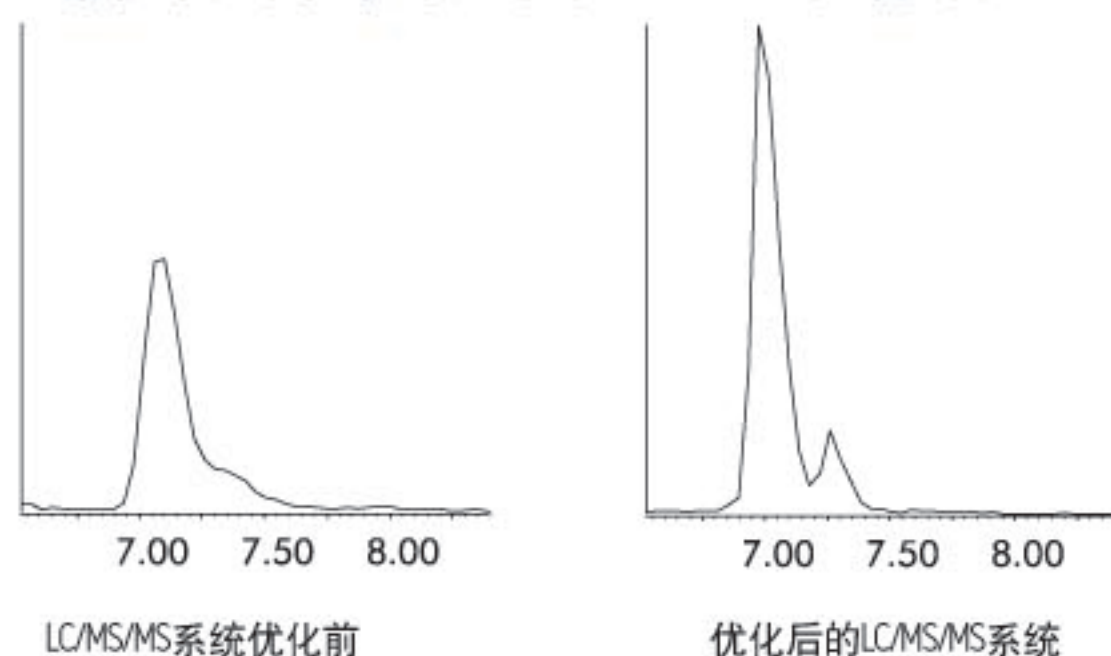
b. 系统谱带扩展对2.1mm内径的色谱柱的影响

同样的色谱柱, 在谱带扩展体积为70 μ L的系统上塔板数为10,000; 而在谱带扩展体积为100 μ L的系统上塔板数为8,000。

提示: 柱后分流器将引入额外的谱带扩展

LC系统特别是有柱后分流器的系统优化对于灵敏度和分离度是至关重要的。优化的方法包括锥箍的深度适当, 同时尽可能减小管路的内径和长度。图9是一个LC/MS/MS系统优化前后的差异, 灵敏度和分离度都提高了一倍以上。

图9 非优化的和优化过的LC/MS/MS系统对照



c. 有关优化LC/MS/MS系统的建议

- a) 使用2.1mm内径色谱柱时, 请使用微径检测器流动池(说明: 为了减小谱带扩展体积而缩短流动池的长度会导致检测器灵敏度下降)。
- b) 尽可能减小进样器的loop环体积。
- c) 常规HPLC系统使用0.009英寸(0.25mm)的连接管路, 使用2.1mm微径柱的系统需要使用0.005英

寸(0.12mm)的管路。

- d) 注意不同厂家色谱柱的不同, 保证管路和色谱柱连接恰当。
- e) 检测器时间常数应缩短为0.2秒以内。

d. 沃特世小颗粒填料(2.5 μ m)色谱柱—快速液相色谱

沃特世公司2.5 μ m颗粒的色谱柱提供快速高效分离, 并具有很好的柱寿命, 以下内容列出了使用2.5 μ m小颗粒色谱柱需要考虑的几个因素:

注意: 装填2.5 μ m小颗粒的色谱柱出口端的过滤片孔径比进口端小, 因此不能将色谱柱进行反冲。

- a) 流速: 同5 μ m颗粒的色谱柱相比, 2.5 μ m颗粒的色谱柱具有更高的最佳流速, 当需要高柱效和快速分离时需要选择这种色谱柱。当然, 高流速势必会产生高的操作压力。

提示: 请根据所用LC系统的实际情况调节流速

- b) 反压: 对于同样规格的色谱柱, 2.5 μ m颗粒的柱压比5 μ m颗粒要高很多。沃特世公司建议选择较短的色谱柱, 这样还可以达到更快的分离。
- c) 温度: 可以使用较高的温度来补偿小颗粒造成的压力升高, XTerra色谱柱的建议使用温度是20-60 $^{\circ}$ C。
- d) 采样速率: 使用10点/秒以上的采样速率. 为了得到最佳的重现性, 则需要最早流出的峰至少具有20个数据点。
- e) 检测器时间常数: 对于快速分析, 使用0.1秒以下的时间常数。

[产品使用和维护指南]

沃特世科技(上海)有限公司

地址: 上海市浦东新区张东路

1387号41栋01室

邮编: 201203

电话: 021-6879 5888

传真: 021-6879 4588

北京分公司

地址: 北京市朝阳区八里庄西里98号

住邦2000商务中心3号楼22层

邮编: 100025

电话: 010-8586 8899

传真: 010-8586 7099

广州分公司

地址: 广东省广州市流花路

中国大酒店商业大厦406-407室

邮编: 510015

电话: 020-8626 6678

传真: 020-8668 6217

沃特斯中国有限公司

地址: 香港九龙柯士甸道102号901室

电话: 852-2964 1800

传真: 852-2549 6802



Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

© 2008 沃特世公司
2008年4月736000269ZH



沃特斯中国有限公司
沃特世科技(上海)有限公司

北京: 010 - 8586 8899
上海: 021 - 6879 5888
广州: 020 - 8626 6678
香港: 852 - 2964 1800

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676
www.waters.com www.waterschina.com